

論文内容の要旨

論文提出者氏名 小林 博喜

論文題目

Overexpression of denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog (DTL) is related to poor outcome in gastric carcinoma

論文内容の要旨

胃癌において様々な治療標的分子が同定されてきたが、実地臨床の現場において診断・治療標的分子はまだ少なく、胃癌の進行に関与する新たな癌遺伝子の探索が必要である。近年、DTL(denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog)は肝細胞癌、乳癌、ユーイング肉腫など様々な癌腫において発癌に関与していることや、p53 の安定化に関与していることが報告されている。胃癌に関しては、in vitro の解析で癌の増殖に関与することが報告されているが、臨床検体での発現意義や詳細な分子機能に関しては明らかになっていない。今回申請者らは、胃癌における DTL 遺伝子の発現意義と臨床応用の可能性について検討した。

まず 7 種類の胃癌細胞株 (KatoIII、NUGC4、HGC27、MKN 7、MKN28、MKN45、MKN74) における DTL の発現を評価したところ、4 株(57%)の胃癌細胞株において DTL の高発現を認めた。次に当院で治癒切除した胃癌連続症例 100 例における DTL 特異抗体を用いた免疫組織学的解析では、DTL 高発現群が 42 例(42%)、低発現群は 58 例(58%)であり、高発現群で有意にリンパ管侵襲陽性例、深達度進行例、及び再発症例が多く、予後不良であった。また、多変量解析で DTL 高発現はリンパ管侵襲、リンパ節転移とともに独立した予後因子となった。

続いて p53 野生株の NUGC4 と p53 変異株の HGC27 において DTL 特異的 siRNA を用いた knockdown 実験を行った。腫瘍増殖についての検討で、NUGC4 および HGC27 いずれにおいても Control 群と比較し DTL knockdown 後 72h で細胞増殖抑制を認めた。これにより DTL は過剰発現により p53 変異非依存的に細胞増殖能に関与することが示唆された。また遊走・浸潤能についての検討においても、DTL の knockdown により遊走・浸潤能の抑制を認めた。以上の結果は臨床検体を用いた免疫組織学的解析の結果に矛盾しないものであった。

DTL はユビキチンリガーゼ E3 蛋白である CRL4 に結合し、ユビキチン化を制御することで下流に存在する CDT1, p12, p21 などの分解を調節していることが報告されている。加えて乳癌細胞の増殖や肝細胞癌における転移能獲得への DTL 過剰発現の関与が報告されている。しかし、これまで胃癌における臨床的意義についての報告はなく、今回申請者ら

は胃癌における新規癌遺伝子として DTL 遺伝子の発現が悪性度や予後に関与しバイオマーカーとして有望であることを明らかにした。

DTL と p53 との関連については、DTL と PCNA が p53 のユビキチン化を制御しており、DTL を不活化することで p53 の安定化および細胞増殖の停止が誘導されることが報告されている。また DTL が胃癌細胞において P53 依存的にアポトーシスを誘導することが報告されているが、今回申請者らは DTL が p53 非依存的に胃癌細胞の増殖に関与する経路がある可能性を示した。

以上より、DTL は胃癌の悪性度や予後に関連する治療標的・癌関連遺伝子候補であり、今後の臨床応用に極めて有用性の高い分子と考えられる。